

Ricerche sugli alcaloidi del genere *Solanum*

Nota II - Glucoalcaloidi della solasodina isolati dal *Solanum Tomatillo* (Phil). (*)

In un precedente lavoro sui principi attivi del *Solanum Tomatillo* (Phil) avevamo descritto l'isolamento di tre alcaloidi steroidici di cui avevamo identificato la solasodina e caratterizzato un nuovo composto che avevamo denominato *Tomatillidina* (1).

Dato che, nel genere *Solanum*, questi composti si trovano, in natura, in forma glucosidica abbiamo desiderato studiare anche la costituzione dei glucoalcaloidi.

Questi sono stati estratti con acido acetico diluito e precipitati con ammoniaca. La miscela è stata quindi frazionata per cromatografia su colonna di allumina, impiegando n-butanolo come eluente, seguendo con la cromatografia su carta la composizione delle singole frazioni.

Ripetendo l'operazione, abbiamo isolato cinque glucoalcaloidi. Di questi, due in quantità minime (R_f 0,87 e 0,57 rispettivamente), sufficienti solo per le determinazioni cromatografiche su carta, e che per il momento non abbiamo preso in considerazione.

I tre rimanenti glucoalcaloidi in esame, presentano rispettivamente il punto di fusione: 224-229°, 172-176° e 285-287° (con decomposizione) e sono caratterizzati da diversi valori di R_f . Per semplicità, li distingueremo, in questo lavoro, in base al loro punto di fusione.

Il glucoalcaloide p.f. 285-287° (R_f in butanolo 0,25) dà per idrolisi una miscela di zuccheri che è stata sottoposta a cromatografia su carta, e un aglicone.

Dalle caratteristiche chimico fisiche e dai dati analitici questo aglicone è stato identificato con la solasodina (2). Tale identità è stata confermata effettuando un p.f. misto con un campione di solasodina pura che non dà depressione. Inoltre lo spettro IR della sostanza è identico a quello della solasodina effettuata di confronto.

La cromatografia su carta degli zuccheri dell'idrolizzato del glucoside consente di mettere in evidenza la presenza di glucosio, galattosio e ramnosio.

Dato che il p.f. del glucoalcaloide e il suo potere rotatorio erano vicini a quelli della solasonina (2) che dà appunto, per idrolisi, glucosio, galattosio e ramnosio, e

(*) Memoria presentata dall'Accademico Domenico Marotta.

che è un trisaccaride della solasodina abbiamo supposto che si trattasse di questo composto. Abbiamo potuto stabilire l'identità del glucoalcaloide 287° con la solasonina, sia per cromatografia mista sia effettuando un punto di fusione misto con il composto di confronto.

Il glucoalcaloide a p.f. 224-229° presenta un R_f 0,48 abbastanza diverso da quello della solasonina. Per idrolisi dà origine a solasodina, come aglicone e a glucosio, galattosio e ramnosio, come zuccheri.

Questo ultimo risultato esclude che si possa trattare di solamargina (*), dalla quale il composto in esame non è distinguibile per cromatografia su carta avendo lo stesso R_f . Infatti la solamargina è un trisaccaride della solasodina che contiene come zuccheri, due molecole di ramnosio e una di glucosio, mentre nel glucoalcaloide p.f. 224-229° si trova accanto al glucosio ed al ramnosio anche il galattosio.

Le determinazioni analitiche stanno in accordo con la struttura di un trisaccaride, quindi bisogna considerare il glucoalcaloide p.f. 224-229° un isomero non conosciuto della solasonina dalla quale potrebbe differire nell'ordine e nel tipo di legame con cui i tre zuccheri sono uniti tra loro.

Il glucoalcaloide p.f. 172-176° (R_f 0,33) per idrolisi acida dà origine a solasodina, mentre tra gli zuccheri, si ritrovano solamente glucosio e galattosio.

Si tratta in questo caso di un nuovo glucoside della solasodina non ancora descritto.

Il *Solanum Tomatillo* contiene tre glucosidi della solasodina, di cui uno è stato identificato con la solasonina.

I due altri glucoalcaloidi si possono considerare l'uno un trisaccaride isomero della solasonina, dalla quale si distingue per le diverse proprietà fisico-chimiche, e l'altro un disaccaride della solasodina.

PARTE SPERIMENTALE

Estrazione.

4 Kg. di foglie di *Solanum tomatillo* seccate in corrente di aria calda a circa 40° sono state polverizzate in mulino a martelli e quindi estratti per tre volte con acido acetico al 5%, cioè fino a reazione negativa degli alcaloidi con il reattivo di Tanret.

La soluzione si centrifuga per separare la polvere di foglie e si precipita con idrato di ammonio riscaldando a leggera ebollizione.

Precipitano, in questo modo, gli alcaloidi totali che contengono ancora una notevole quantità di pigmenti verdi. Questi sono stati eliminati disciogliendo il precipitato in butanolo acquoso e filtrando la soluzione ottenuta attraverso allumina.

Dalla soluzione si elimina quindi il butanolo per distillazione in corrente di vapore. Il residuo è costituito dagli alcaloidi totali.

Cromatografia su carta.

Si impiega il metodo ascendente-discendente o discendente. Strisce di carta Whatman 1 di 2,5 cm di larghezza. Come solvente si impiega acetato di etile-acido acetico-acqua (3 : 1 : 3). A 160 ml della soluzione, dopo avere separato l'acqua, si aggiungono 15 ml di etanolo⁽²⁾. Durata dell'operazione tra 22 e 24 ore.

Come rivelatore è stato impiegato il reattivo di Dragendorff per immersione⁽⁴⁾.

Sottoponendo alla cromatografia la miscela degli alcaloidi totali si rivelano tre macchie rispettivamente ad R_f 0,25-0,48 e 0,33 che corrispondono ai componenti principali e due macchie, poco intense con R_f 0,87 e 0,57.

Separazione degli alcaloidi per cromatografia su colonna.

Su di una colonna di 38 mm di diametro, contenente 110 gr di allumina Merck neutra (attività III secondo Brockmann), si fa passare una soluzione di 10 g di alcaloidi totali in butanolo-saturo d'acqua e la colonna si eluisce quindi con lo stesso solvente.

Si raccolgono in questo modo 36 frazioni da 50 ml ognuna con un recupero di circa 3 g di alcaloidi.

Dopo avere lavato la colonna con metanolo, dato che non si eluiva altro prodotto il composto rimasto assorbito è stato portato in soluzione con acido acetico al 5% e quindi riprecipitato con ammoniaca diluita.

Delle 36 frazioni è stato effettuato il controllo cromatografico su carta. Le frazioni dal 1 al 4 contengono due alcaloidi principali ad R_f 0,33 e 0,48 ed inoltre piccole quantità di alcaloidi a R_f 0,57, e 0,87. Queste prime frazioni non sono state ulteriormente studiate.

Le frazioni dal 5 al 17, contenenti 2,7 g di alcaloidi totali sono state nuovamente cromatografate, dopo avere evaporato il solvente, su colonna di allumina impiegando come eluente una miscela di butanolo-acetato d'etile-saturati di acqua.

Si sono raccolte 30 frazioni da 10 ml, che al controllo cromatografico hanno mostrato una buona separazione.

In questo modo abbiamo ottenuto 0,775 g di glucoalcaloide a R_f 0,48, 1,8 g di glucoalcaloide a R_f 0,33.

Anche la frazione recuperata dalla colonna per dissoluzione in acido acetico al 5% risulta unitaria cromatograficamente. Presenta un R_f di 0,25. Se ne sono ottenuti g 6,2.

Sotasonina.

Il glucoalcaloide a R_f 0,25 è stato cristallizzato da metanolo 60% seguendo la tecnica proposta dal Briggs⁽³⁾ e si è ottenuto in cristalli p.f. 285-287°.

Il composto sottoposto a cromatografia su carta nelle condizioni sopra riportate dà una macchia unica a R_f : 0,25, 0,300 mg di prodotto sono stati idrolizzati riscaldandoli a ricadere per 3 ore con 13 ml di HCl 2/N. Lasciando l'idrolizzato

in ghiacciaia per una notte si separa l'aglicone in forma di un precipitato cristallino. Questo si raccoglie su filtro e si sposta la base facendo bollire con un eccesso di ammoniaca concentrata, per mezz'ora.

Il precipitato si raccoglie, si lava con acqua e si cristallizza due volte dall'acetone. Si ottengono cristalli fondenti a 201°-203°. Il composto, al punto di fusione misto con un campione puro di solasodina, non dà depressione. Egualmente il suo spettro IR è risultato identico a quello della solasodina.

L'idrolizzato acido, dopo avere separato l'aglicone, viene fatto passare attraverso una colonna di intercambio ionico e l'eluato viene sottoposto a cromatografia su carta, impiegando come solvente butanolo-piridina-acqua (3 : 1 : 1), per la durata di 14-18 ore.

Si rivela il cromatogramma spruzzando con una soluzione di p-anisidina in butanolo-metanolo secondo Pridham⁽⁷⁾, e scaldando successivamente le strisce per 8-10' a 110°.

In questa maniera sono stati messi in evidenza glucosio, galattosio e ramnosio, in base ai loro R_f e alle cromatografie miste di confronto con campioni puri.

Il glucoalcoide sottoposto a cromatografia su carta nelle condizioni sopra riportate per queste sostanze con un campione di solasonina pura, mostra lo stesso R_f ed egualmente la cromatografia mista da una sola macchia.

Il glucoalcoide non manifesta alcuna depressione al p.f. misto con la solasonina.

Glucoalcoide p.f. 224-229°.

Il composto è stato cristallizzato più volte da etanolo 60%. Fonde a 224-229° con decomposizione. È unitario alla cromatografia su carta e possiede un R_f di 0,48.

All'analisi ha dato :

per C ₁₆ H ₂₃ O ₁₄ N	trov. % :	C 61,39	H 8,67
	calc. % :	61,13	8,32

Il potere rotatorio specifico è :

$$[\alpha]_D^{20} = -75^{\circ} \quad (C = 1,486\%)$$

Per idrolisi, secondo le modalità sopra riferite per la solasonina, dà solasodina e una miscela di zuccheri identificata per via cromatografica con glucosio, ramnosio e galattosio.

Glucoalcoide p.f. 172-176°.

Il composto è stato ricristallizzato da etanolo a 60% fino a punto di fusione costante. Fonde a 172-176° con decomposizione. Alla cromatografia su carta dà una sola macchia a R_f 0,33.

Il potere rotatorio è:

$$[\alpha]_D^{20} = -27^\circ (C = 2,0\%)$$

Per idrolisi nelle condizioni soprariportate dà origine a solasodina e a una miscela di zuccheri identificata per via cromatografica con glucosio e galattosio.

Spettroscopia IR.

È stata eseguita in KBr con l'apparecchio Perkin-Elmer 21 a doppio raggio.

Santiago de Chile - Instituto de Química de la Universidad Católica.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Chimica Biologica.

(¹) E. BIANCHI, P. DIAZ e J.A. GARRAENO, *Gazz. Chim. Ital.*, **90**, 894 (1960).

(²) L.H. BRIGGS, W.E. HARVEY, R.H. LOCKER, W.A. MC. GILLIVRAY e E.N. SEELYE, *J. Chem. Soc.*, 3013 (1950).

(³) R.C. BELL, L.H. BRIGGS, *J. Chem. Soc.*, 1942, 1.

(⁴) L.H. BRIGGS, E.G. BROOCKER, W.E. HARVEY, A.L. ODELL, *J. Chem. Soc.*, 1952, 3587.

(⁵) E. KUHN, I. LOW, *Ber. deut. Chem. Ges.*, **88**, 291 (1955); H.B. RASMUSSEN e P.M. BOLL, *Act. Chem. Scand.*, **12**, 894 (1958).

(⁶) E.J. BLOCK, *Manual of paper chromatography*, Acad. Press 1958, 361.

(⁷) J.B. PRIDHAM, *J. Anal. Chem.*, **28**, 1967 (1956).